

**MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
WÄHREND UND NACH DER CANCERISIERUNG
DES RATTENDARMES DURCH
1,2-DIMETHYLHYDRAZIN**

Friedrich Wildanger

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554604_0048

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof. Dr. M. Eder

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN WÄHREND UND NACH DER
CANCERISIERUNG DES RATTENDARMES DURCH
1,2 - DIMETHYLHYDRAZIN

Reaktion des Tumorwachstums bei Ganzkörperbestrahlung,
bei Behandlung mit Sanamycin und Endoxan

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Friedrich Wildanger
aus Burgweinting

1973

Referent: Prof. Dr. A. Schauer

Dekan: Prof. Dr. W. Span

Tag der Doktorprüfung: 12.6.1973



INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	Seite	1
Morphologische Untersuchungen während und nach der Cancerisierung des Rattendarmes durch 1,2 - Dimethylhydrazin (DMH)	"	3
Abhängigkeit von Dosis und Induktionszeit	"	12
Experimentelle Untersuchung zur diaplazentaren Wirkung von 1,2 - DMH	"	14
Experimentelle Untersuchung der Darmtumoren nach Ganzkörperbestrahlung und nach Behandlung mit Sanamycin und Endoxan	"	17
Zusammenfassung	"	25
Literaturverzeichnis	"	27
Lebenslauf	"	38

Von allen bekannten Krebstheorien hat die Kenntnis von der Tumorinduktion mittels chemischer Substanzen wegen ihrer großen experimentellen Arbeitsmöglichkeit die größte Bedeutung erlangt. Einen besonderen Beitrag zur Tumorerforschung erzielte im Jahre 1968 Druckrey und seine Mitarbeiter (21). Sie konnten mit Hilfe von 1,2-Dimethylhydrazin (DMH.) selektiv Darmtumoren bei Ratten erzeugen. Diese Tatsache gibt nun die Möglichkeit für Modelluntersuchungen bei der Prüfung der Entstehung von Darmtumoren und auch von therapeutischen Maßnahmen.

Daß DMH auch bei Mäusen und bei Goldhamstern Darmtumoren hervorruft, zeigten in den folgenden 2 Jahren Wiebecke et al (79) und Osswald et al (51).

Weitere am Darm wirksame Cancerogene fand schon früher Laquer (39,40) bei der Ratte nach Applikation von Cycasin, einem Glykosid des Methyl-azoxymethanols (18,39,40) und seinem Aglykon. Als wirksames Cancerogen mit der selben Organotropie erwähnt Druckrey (24) 4-Dimethylaminodiphenyl bei oraler Verabreichung.

Durch die Vielfalt der chemischen Gruppenvariationsmöglichkeiten kann heute jedem Versuchstier eine bestimmte Grundsubstanz mit verschiedenen Wirkgruppen verabreicht werden. Die gefundene Organotropie bei nur geringfügigem Austauschen von Wirkgruppen am Trägermolekül zeigt, daß es sich um spezifische Reaktionsabläufe in den betreffenden Organen handeln muß oder, daß eine reaktionsbereite cancerogene Substanz an das Erfolgsorgan herangeführt wird. Als Beispiel können die bis jetzt erforschten Hydrazinverbindungen angeführt werden:

1. Über die geschwulsterzeugende Wirkung von Hydrazin (37) berichteten Juhsh et al. Es wurden pathologische Veränderungen im Blutsystem und in der Leber beschrieben.

2. Druckrey konnte mit 1,2 Dialkyl-Hydrazine(18,19,20) ebenfalls eine hochwirksame carcinogene Substanz mit selektiver Wirkung auf das Nervensystem nachweisen.
3. Das symmetrische 1,2-Dimethylhydrazin (21,51,79) zeigt als Dihydrochlorid bei subcutaner Gabe seine spezielle Organotropie am Darm.

In der vorliegenden Arbeit kamen folgende Fragestellungen zur Untersuchung.

1. Welche morphologische Veränderungen treten während und nach der Cancerisierung am Magen-Darmtrakt, der Leber und Niere nach subcutaner Gabe von 1,2 Dimethylhydrazin (DMH) auf?
2. In welcher Abhängigkeit stehen die Veränderungen von Dosis und Induktionszeit?
3. Welche Minimaldosis ist zur Tumorerzeugung erforderlich ?
4. Bewirkt DMH nach diaplazentarem Übergang Tumoreränderungen bei den Nachkommen ?
5. Welchen Einfluß haben immunsuppressive bzw. cytostatische Behandlung mit Röntgenstrahlen, Endoxan und Sanamycin (Actinomycin "C") ?

Letzte Frage gewinnt immer größere Bedeutung, da in der Klinik noch kein sicheres Urteil über eine vermehrte Tumorentstehung nach immunsuppressiver Therapie bei Transplantationen verschiedener Organe und bei Behandlung von Autoimmunkrankheiten gewonnen werden konnte.

1 Morphologische Untersuchungen während und nach der
Cancerisierung des Rattendarmes durch
1,2 - Dimethylhydrazin

Material und Methode

Zur Untersuchung wurden 100 weibliche Sprague-Dawley-Ratten (Zentralinstitut für Versuchstieranstalt Hannover) mit einem Gewicht von 120 ± 20 g bei Injektionsbeginn verwendet. Die Dosierungen von 1,2 - Dimethylhydrazin (DMH) beziehen sich auf die Base, da die Substanz als Dihydrochlorid vorliegt. Für die Versuche wurden auf pH 6,5 eingestellte wässrige Lösungen benützt (21). Die Substanz wurde als hochwirksames Cancerogen von Prof. Druckrey und der Firma Fluka AG Schweiz bezogen. Die Injektionen erfolgten subcutan (s.c.) in die rechte Schenkelbeuge.

I Versuchsanordnung:

40 Sprague-Dawley-Ratten wurden 24×10 mg DMH/kg Körpergewicht (KG)/Woche injiziert.

II Versuchsanordnung:

In einem Absetzungsversuch erhielten 60 Sprague-Dawley-Ratten s.c. 10 mg DMH/kg KG/Woche, wobei die Ratten nach den Injektionsanzahlen - 1,4,8 und 16 - eingruppiert worden waren.

III Versuchsanordnung:

Zur Klärung der Abhängigkeit der Veränderungen von Dosis und Induktionszeit wurden 50 Wistar-Ratten (aus der Ver-

suchstieranstalt Tuttlingen) mit einem Gewicht von 120 ± 20 g ausgewählt. Die Gruppeneinteilung erfolgte nach der Dosis von DMH: 10, 20, 30, 40, 50 und 60 mg DMH s.c./kg KG/Woche.

Die aus den angegebenen Instituten entstammenden Tiere wurden frei von pathogenen Keimen in Plastik Käfigen gehalten und mit Altrominfutter und Trinkwasser ernährt.

Am 50. Tag nach Injektionsbeginn wurde anfangs im Abstand von 10 Tagen, ab dem 200. Tag im Abstand von 30 Tagen bis zum 355. Tag nach der 1. Injektion jeweils ein Tier aus jeder Gruppe und ein Kontrolltier dekapitiert, und die Organe Darm, Magen, Niere, Leber, Milz, Lunge, Gehirn und Genitaltrakt makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

Die ca 3 - 4 μ dicken Paraffinschnitte wurden Hämalaun, Eosin, PAS und van Gieson gefärbt.

Ergebnisse:

Die größte Anzahl der Tumoren war wie auch Druckrey et al (21) bei Ratten festgestellt hatte, im Colon lokalisiert. Wiebecke et al (79) haben bei Mäusen gleich Befunde erhoben. Die Verteilung von 201 Tumoren in den verschiedenen Darmabschnitten bei einer gleichen Dosis von 10 mg DMH/kg KG/Woche, aber verschiedenen Tötungszeiten ist in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Lokalisationen der Tumoren	Zahl der Tumoren
Duodenum	9
Jejunum und Ileum	10
Colon ascendens + transversum	118
Colon descendens + Rektum	64

Makroskopisch war meist zwischen flachwachsenden, stark die Muskelwand infiltrierenden und polypösen, das Darmlumen einengenden Tumoren zu unterscheiden.

Bei der mikroskopischen Betrachtung der Darmquerschnitte fallen nach Gabe von 1,2 - Dimethylhydrazin folgende Veränderungen in der Darmschleimhaut auf : Wie Löhrs et al (44) und Springer et al (69) berichten, war nach einmaligen Injektionen von 14 mg DMH/kg KG pro Ratte eine interstitielle entzündliche Reaktion im Bereich der Lieberkühnschen Krypten nachweisbar. Zahlreiche regressive Kernveränderungen mit Pyknosen und Karyorhexis und Zelldesquamation waren zu sehen. Gelegentlich waren durch den entzündlichen Prozeß verursacht, typische Kryptenabszeße nachweisbar, die so groß waren, daß ein Tumor vorgetäuscht wurde.

Wie nach Einwirkung anderer Cancerogene wurde nach etwa 4 Wochen hyperplasiogene Wirkung festgestellt. So wurden bei ein- bis dreimaliger Injektion einer hohen Dosis (40 - 60 mg DMH/kg KG/Woche) eindeutige Zottenverlängerungen beobachtet. Ferner waren die Zotten in der unmittelbaren Umgebung eines Adenoms z.B. im Vergleich zur im Querschnitt gegenüberliegenden Schleimhaut hyperplastisch.

Wie aus mehreren durchgeführten Laparatomie-Untersuchungen hervorgeht, vollzieht sich die Tumorentwicklung sowohl für die Darmpolypen als auch für die Carcinome in einem enorm kurzen Zeitraum von etwa einer Woche entsprechend der hohen Proliferationsaktivität der Darmschleimhaut.

Tabelle 2

Tumoreinteilung nach dem Malignitätsgrad. Ergebnis nach
Stufen-Serienschnitten von 103 Colontumoren nach subcutaner
Gabe von 1,2 DMH bei 53 Sprague-Dawley-Ratten

0	Hyperplastische Entzündungen	8
1	Hyperplastische Polypen	4
2	Adenomatöse Polypen	38
3	Villöse Polypen	5
4	Primäre Adeno-Carcinome	20
5	Gallert - Carcinome	12
6	entartete adenomatöse Polypen	5
7	entdifferenzierte Adeno-Carcinome	11

In der Nähe von Peyer'schen Plaques sah man, wie von Springer beschrieben (69) schon bei Kontrolltieren weitlumige, becherzellfreie und mit stärker basophilen Kernen ausgestaltete Drüsenschläuche. Auffallend oft (10%) waren über oder am Rande dieser Plaques Tumoren gewachsen, wobei sich diese Aussage nur auf den Nachweis kleiner Tumoren gründet, da nur hier ein sekundärer Kontakt mit hyperplastischen Plaques ausgeschlossen werden konnte.

Unter den Darmtumoren zeigte die Mehrzahl ein polypöses Bild. Allgemein fand sich in der Regel ein Differenzierungsverlust mit weitgehendem Fehlen der Becherzellen.

Unter den beobachteten Polypen waren hyperplastische adenomatöse, villöse bzw. Mischformen aus diesen beiden zu unterscheiden. Bei diesen in ihrem Wachstumsverhalten zunächst eindeutig gutartig erscheinenden Proliferationen lag zytologisch gesehen keine starke Polymorphie vor.

In größerer Anzahl wurden maligne exophytisch wachsende Tumoren beobachtet. Dabei handelte es sich zum Teil um herdförmig maligne entartete adenomatöse Polypen oder wohl um primär exophytisch wachsende Adenocarcinome, an denen keine Anteile von adenomatöse Polypen erkennbar waren. Bei diesen Tumoren wurden deutliche entweder oberflächliche lokalisierte oder fokale angeordnete Wachstumzentren festgestellt. Hier ergab sich ein hoher ^3H -Thymidinmarkierungsindex und eine wesentliche erhöhte Mitoserate.

Neben den vorwiegend exophytisch wachsenden Adenocarcinomen wurden häufig auch primär infiltrierend wachsende Adenocarcinome festgestellt, die die Darmwand vollständig durchwachsen hatten und sich auf der Serosa ausbreiteten. Während bei dieser Tumorform in der Regel ein circumskriptter Ausgangspunkt erkennbar war, lagen die Verhältnisse bei den

darüber hinaus gefundenen Siegelringzellcarcinomen entsprechend der Verhältnisse beim Menschen anders. Bei dieser Gruppe wurden teils drüsig differenzierte, teils monozellulär verschleimende Tumoren nachgewiesen. Die bevorzugt monozellulär verschleimenden Tumoren ließen oft keine distinkten Ausgangspunkt erkennen, gelegentlich wurden aber transformierte Drüzenschläuche mit Atypie und Auflösung der Basalmembran auf Grund von Serienschnittuntersuchungen gesehen.

2 Ratten verendeten bei ausgedehnter Metastasierung eines verschleimenden Gallertcarcinoms, obwohl makroskopisch kein Tumor im Magen-Darmtrakt nachzuweisen war.

Bei einem Tier fand sich im Colon 3cm vor dem Anus das Bild eines typischen Adenocarcinoms.

Während die oft nur gering differenzierten Adenocarcinome meist in die Submukosa vordrangen und die Darmmuskulatur destruierend und in die Bauchhöhle infiltrierend sich ausbreiteten, in der Regel aber nicht zu einer Fernmetastasierung führten, wurden bei den entdifferenzierten Adenocarcinomen - den örtlich stark infiltrierenden monozellulären verschleimenden Siegelringzellcarcinomen - sehr häufig eine ausgedehnte Peritonealcarcinose mit Metastasierung in die Ovarien - ähnlich den Kruckenbergmetastasen beim Menschen - sowie in den Lungen gefunden. Leber und Hirnmetastasen traten nicht auf.

In den Spätstadien wurde bei 2 Tieren Nierentumoren von der Größe eines Hühnereies gesehen. Diese zeigten histologisch polymorphe und spindelzellige Verbände mit großen hämorrhagischen Nekrosen und Pseudocystenbildungen mit PAS-negativem Inhalt. Diese Tumoren entsprechen wahrscheinlich Metastasen eines Adenocarcinoms des Darmtraktes.

Unspezifische pathologische Veränderungen oder Tumoren der Magenschleimhaut wurden nicht beobachtet. Anfänglich wurden makroskopisch derbe flächenhafte Tumoren in der Magenwandung für selbständige Geschwülste gehalten.

Histologisch zeigte sich aber bei Kontrolle in Serienschnitten Siegelringzellcarcinometastasen in der Serosa ohne eine Beziehung zur Magenschleimhaut.

Schon vor dem Auftreten von Darmtumoren sind in der Leber subcapsulär mit Galle gefüllte Cystenbildung zu erkennen. Diese nehmen an Zahl zu und können einen ganzen Leberlappen befallen. Mikroskopisch handelte es sich um Gallengangscysten mit Kompression des umliegenden Lebergewebes. Solche Gallengangswucherungen wurden von Dontenwill und Eder auch beim Goldhamster nach Follikelhormonbehandlung gefunden (17).

In der Leber und Milz fielen vereinzelt große Zellen der Retikulo-histiozyteren Reihe mit stark eosinophilem Cytoplasma und basophilem stabförmigen Nucleolus auf. Selten fanden sich in der Leber narbige Bindegewebsstränge. Diese Befunde könnten mit den Ergebnissen von Juhash et al (37) übereinstimmen, die Leukämien und fibrotische Veränderungen in der Leber bei der geschwulsterzeugenden Wirkung von Hydrazin beschrieben haben. Auch 2 Hepatome waren aufgetreten.

Erreichten die weiblichen Sprague-Dawley-Ratten trotz der Darmtumoren den 320 ± 20 . Tag nach der Erstinjektion mit DMH, so traten auch primäre Nierentumoren auf. Von 8 Ratten hatten 6 Tiere je einen, 1 Tier beidseitig einen Nierentumor.

Makroskopisch zeigten sich weiße Tumoren von fester Konsistenz, die sich unscharf vom Nierenparenchym abhoben. Bei 2 Tumoren wurden auch Cysten im Zentrum mit PAS-negativem Inhalt gefunden.

Mikroskopisch erkannte man einen zellreichen, mitosearmen und schalenartig um die Tubuli wachsenden, bei gleichzeitiger Einengung derselben und in Richtung Mark und Rinde infiltrierend wachsenden Tumor. Das Tubulusepithel war im Tumorzentrum stärker abgeflacht als in den Radgebieten. Die Tumorzellkerne sind einheitlich mit stark basophil angefärbten Kernen und abgerundeten Polen. Der eosinophile Cytoplasmaanteil war sehr gering. Das Interstitium war stark verbreitert.

Bei der histochemischen Prüfung bestimmter Leitenzyme des Tubulusepithels zeigte sich, daß die unspezifische Esterase (Darstellungsmethode nach Thybusch (75)) als erstes Enzym abgeschwächt war. Ihr folgte die alkalische Phosphatase (Darstellungsmethode nach Stutte (72)). Die Succinatdehydrogenase (61) war auch noch in den sehr stark eingeengten Tubulusepithelien erkennbar. Diese Befunde beziehen sich nicht auf präcanceröse Veränderungen, sondern auf das schon makroskopisch sichtbare Tumorgewebe. Es fand sich nur ganz vereinzelt eine stärkere Reaktion der alkalischen Phosphatase im Interstitium der Nierentumoren.

Diese Nierengeschwulste haben keine Ähnlichkeit mit den aus der Humanpathologie bekannten Tumoren. Auch die von Laquer beschriebenen Nierentumoren (40) nach Gabe von Cycasin mit einem dem Wilms-Tumor ähnlichem Aufbau lassen sich nicht mit dem durch DMH hervorgerufenen Nierengeschwülsten unmittelbar vergleichen. Hier handelt es sich um Fibrome der Nieren.

Die DMH-Gesamtdosis zur Induzierung dieser Nierentumoren war bei der Mehrzahl dieser Ratten 160 und 240 mg DMH/kg KG. Bei einem Tier mit nur 80 mg DMH/kg KG Injektionsgesamt-dosis war ebenfalls ein Nierentumor aufgetreten.

2. In welcher Abhängigkeit stehen die Veränderungen von Dosis und Induktionszeit ?

Auch DMH läßt sich unter die von Druckrey, Schmähl et al (25, 23, 24) untersuchten alkylierenden Agentien mit eindeutigen Dosi^S/Zeit - Wirkungsprinzip einreihen. So ließ sich nachweisen, daß sich a. die Induktionszeit bei gesteigerter Injektionsmenge des Cancerogens verkürzt, b. bei Verkürzung der Tumorinduktionszeit die benötigte Gesamtdosis des Cancerogens erhöht werden muß, wie aus der Tabelle 3 auch zu ersehen ist.

Tabelle 3

ED	IT	I	GD
10	140	20	200
20	104	14	280
30	90	12	360
40	77	10	400

ED = Einzeldosis von DMH in mg/kg KG/Woche

IT = Induktionstage bis zum ersten sichtbaren Tumor

I = Gesamtanzahl der Injektionen

GD = Gesamtdosis

3. Die Frage, welche Minimaldosis bei DMH zur Erzeugung eines Darmtumors erforderlich ist, kann nach den eigenen vorliegenden Untersuchungen dahingehend beantwortet werden, daß bei einem Tier eine einmalige Injektion von 2mg DMH / Ratte = ca 10 mg DMH/kg KG ausreichte adenomatöse Polypen nach 270 Tagen zu induzieren. Bei 16 und 24 Injektionen von 10 mg DMH/kg KG/Woche wurde eine 100%ige Angehrate mit Entwicklung von Tumoren verschiedener Differenzierung gefunden. Bei 8 Injektionen von 10 mg DMH/kg KG /Woche und darunter war die Induktionszeit sehr unterschiedlich. Hier schwankte die Tumorentstehungszeit bis zu 100 Tage und mehr innerhalb der selben Gruppe, so daß eine 100%ige Angehrate zahlenmäßig nicht bewiesen werden konnte.

Experimentelle Untersuchungen zur diaplazentaren
Wirkung von 1,2 DMH

I Material und Methode

6 Gruppen von je 3 Tieren - weibliche Sprague Dawley-bzw. Wistar - Ratten - mit einem Einzelgewicht von 140 ± 20 g wurden vor der Befruchtung 1-3 mal in steigender Reihe 2,4,6,8,10 und 12 mg DMH/Tier/Woche s.c. injiziert. Während der Tragzeit wurde die wöchentliche Injektion in gleicher Dosis beibehalten. Nach der Geburt wurde die Applikation abgesetzt. Folgende Organe wurden makroskopisch und histologisch geprüft: Leber, Darmtrakt, Milz, Lunge, Gehirn und Genitaltrakt. Die Darmschleimhaut wurde auf Grund unserer Fragestellung über Frühveränderungen der Cancerogenese enzyhistochemisch an 5 μ dicken Kryostat-schnitten untersucht. Die alkalische Phosphatase wurde nach der Methode von Stutte (72), die unspezifische Esterase mit Hilfe der Methode von Thybusch et al (75) und die Succinatdehydrogenase nach der Darstellungsmöglichkeit von Rosa und Tsou (61) zur Suche nach Frühveränderungen benutzt.

Die Nachkommen und ihre Muttertiere wurden bis zum 460. Tag nach der Geburt beobachtet. In der Zwischenzeit wurden insgesamt 20 Jungratten ab dem 200. Tag nach der Geburt im Abstand von 50 Tagen getötet und die oben genannten Organe histologisch und enzyhistochemisch untersucht. Nach dem 460. Lebenstag der Nachkommen wurden die restlichen 67 Jungratten und ihre Muttertiere dekapitiert und die beschriebenen Organe makroskopisch und histologisch, besonders nach Tumoren durchsucht. Zum Vergleich war eine Gruppe von Muttertieren mit NaCl gespritzt worden.

II Ergebnis

Pro Wurf schwankte die Anzahl der Jungen zwischen 2 und 8 Nachkommen unabhängig von der gespritzten DMH-Dosis.

Die 87 Jungtiere teilten sich in 43 weibliche und 44 männliche Tiere auf.

Bei allen mit 1,2 DMH behandelten Muttertieren konnten die schon beschriebenen Darmtumoren nachgewiesen werden. Die Jungtiere entwickelten sich normal und ließen äußerlich **keine** Veränderungen erkennen. Auch histologisch und histochemisch konnten keine Veränderungen festgestellt werden.

III Diskussion

Zahlreiche Untersuchungen mit alkylierenden Substanzen wie Diäthyl-nitrosamin (47, 54, 74), Äthylnitrosoharnstoff (ÄNH), Azo- und Azoxyaethan und 1,2 Diäthylhydrazin (18, 19, 20) haben die Möglichkeit einer transplazentaren Tumorinduktion aufgezeigt. Da nicht nur eine cancerogene Wirkung der oben genannten Substanzen transplazentar möglich ist, sondern auch die Empfindlichkeit der entsprechenden Organe in der pränatalen Entwicklung signifikant zunehmen kann, wie Druckrey et al am Beispiel von ÄNH am Zentralnervensystem zeigen konnten und eine transplazentare Übertragung von Sarkomen und Melanomen sehr selten von Carcinomen bisher in der Klinik noch nie beschrieben worden sind (41), kommt der Suche nach Substanzen mit einer transplazentaren cancerogenen Wirkung besondere Bedeutung zu. So verdient nicht nur die Häufigkeit neurogener Tumoren im Kindesalter sondern auch die Erkenntnis, daß die Ursache einer im späteren Leben auftretenden Krebsgeschwulst bereits während der pränatalen Entwicklung eingewirkt haben kann, besondere Beachtung. Das vorliegende Ergebnis, da keine Tumorentstehung bei 87 Nachkommen nach 460 tägiger postpartaler Induktionszeit lieferte, steht im Einklang mit den Befunden von Druckrey et al (18, 19, 20), die allerdings nach einmaliger Verabreichung am 15. Tag der Tragzeit ebenfalls keine Tumorbildung ergaben.

Die Möglichkeit einer Übertragung durch die Muttermilch wurde bei der hier gewählten Versuchsanordnung nicht während der gesamten Laktationszeit erfaßt.

Offenbar wird die enzymatisch bedingte Überführung in das aktive Cancerogen erst nach der Geburt möglich. Eine Einschränkung der Konzeptionsfähigkeit oder eine verringerte Anzahl von Jungtieren konnte auch bei Gesamtdosen von 72 mg/DMH/ Mutter nicht beobachtet werden.

Experimentelle Untersuchung der Entstehung und des Wachstums
von Darmtumoren bei gleichzeitiger
Immunsuppression durch
Ganzkörperbestrahlung, Sanamycin und Endoxan

a Ganzkörperbestrahlung

I Material und Methode

Drei Gruppen von je 20 weiblichen Wistar-Ratten erhielten 20 subcutane Injektionen von je 20 mg DMH/ kg KG/ Woche. Die erste Gruppe erhielt darüber hinaus eine Ganzkörperbestrahlung mit 200 R vor Injektionsbeginn des Cancerogens. Die zweite Gruppe bekam ferner 2 weitere Ganzkörperbestrahlungen von je 200 R im Abstand von 3 Monaten nach Injektionsbeginn. Die Bestrahlung wurde wie folgt ausgeführt: Caesium -Bestrahlung mit Hilfe eines Caesa - Gammatron 7000 C (Siemens). Der Abstand zum Focus betrug 133 cm und zur Tiermitte 130 cm. Die Bestrahlungszeit ergab sich bei 200 R mit 14 min. und 36 sec.

Am 230. Tag nach der 1. Injektion wurden alle Ratten getötet, die Tumoren nach Anzahl pro Darmabschnitt, Größe und nach der Anzahl der Ratten mit metastasierenden Darmtumoren verglichen.

b Sanamycin (Actinomycin "C") und Endoxan

I Material und Methode

45 weibliche Wistar-Ratten wurde subcutan 20 mg DMH/kg KG/ Woche 20 mal injiziert. Nach der 12. Injektion wurden die Tiere in 3 Gruppen zu je 15 Ratten aufgeteilt. Die erste wurde mit 1,25 mg Endoxan (ca 6,25 mg /kg KG/ Tag bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 200 g) und die zweite mit 20 Gamma Sanamycin /kg KG/ Tag behandelt. Die Cytostatika mit ihrer gleichzeitig immunsuppressiven Wirkung wurden intraperitoneal an jedem Werktag verabreicht. Die dritte Gruppe diente zum Vergleich.

Am 230.Tag nach Injektionsbeginn wurden alle Ratten getötet und die dabei aufgefundenen Darm-Tumoren auf ihre Lokalisation, Anzahl und Größe sowie Metastasierung untersucht und mit den Vergleichswerten der Kontrolltiere in Bezug gesetzt.

II Ergebnisse

Bei den Gruppen mit einer und mit drei Ganzkörperbestrahlungen stieg die Tumoranzahl im Duodenum und im Dünndarm um das 6 bis 12 fache, wie aus der Tabelle 4 zu entnehmen ist. Im Colon ist keine Änderung der Tumorrare als signifikant anzusehen. Es konnte auch weder eine Beschleunigung der Tumorinduktionszeit noch eine Vermehrung von bösartigen Geschwülsten festgestellt werden.

Tabelle 4

Gesamtumorzahl pro Darmabschnitt

	Duodenum	Dünndarm	Colon	Gesamt
Kontrolltiere	1	1	44	46
DMH + 200 R	9	12	30	51
DMH + 3x200 R	6	8	36	50

Die Darmtumoren sind größer in ihrer Flächenausdehnung und meist mit einem Plateau von nekrotischem Material bedeckt. Bei 44 Colontumoren der Kontrolltiere ergab sich eine durchschnittliche Tumorfläche von 2,3 Einheiten pro Tumor. Bei den vorbestrahlten Ratten war in der Gruppe 1 x 200 R ein Anstieg auf 4,9 und in der Gruppe 3 x 200 R sogar auf 7,7 Flächeneinheiten zu bemerken.

Histologisch zeigt sich an der Oberfläche ausgedehntes nekrotisches Tumorgewebe mit starker Infiltration von Entzündungszellen. Ferner sah man erweiterte Blutgefäße, cystische Erweiterungen der Tumordrüsen mit starker Abflachung des auskleidenden Epithels.

Bei den mit Sanamycin behandelten Ratten fiel ebenfalls ein schnelleres Wachstum der Darmtumoren bei selber Induktionszeit im Vergleich zu den Kontrolltieren auf (siehe Tabelle 5). Histologisch war ähnlich wie bei den mit Röntgenstrahlen behandelten Ratten ein Plateau mit nekrotischem Gewebe und entzündlicher Infiltration. Auch bei dieser Versuchsanordnung traten vermehrt Dünndarmtumoren auf, wie aus Tabelle 6 zu ersehen ist.

Tabelle 5

Tumoranzahl pro Größe

mm ²	1	4	6	10	15	20	25
Kontrolltiere	6	25	14	10	5	-	-
mit Sanamycin	8	10	8	18	4	8	8
mit Endoxan behandelt.	25	8	8	2	1	1	-

Tabelle 6

Tumoranzahl pro Darmabschnitt

	Duodenum	Dünndarm	Colon	Gesamt
Kontrolltiere	1	1	60	62
mit Sanamycin	3	15	60	78
mit Endoxan behandelt.	7	0	45	52

Die mit Endoxan behandelten Ratten wiesen eine deutliche Verringerung des Tumorstwachstums gegenüber den Kontrolltieren (siehe Tabelle 5) im Gegensatz zu den bestrahlten und den mit Sanamycin behandelten Ratten auf. Bei einem Tier fand sich nur eine Schleimhauthyperplasie im Colon, bei einem weiteren nur ein Tumor von 1 mm² und bei zwei weiteren Ratten je 2 Tumoren von gleicher Größe.

Die Metastasierung wurde nicht beeinträchtigt, da in jeder Gruppe 6 Ratten mit Siegelringzellcarcinommetastasen gefunden worden waren. Bei einem dieser Tiere war trotz der Kleinheit des Primärtumors schon eine ausgedehnte Peritonealcarcinose aufgetreten.

Wie aus Tabelle 6 zu entnehmen ist, treten aber auch bei dieser Behandlung mit Endoxan vermehrt Tumoren im Duodenum auf.

III Diskussion

Bei einer Ganzkörperbestrahlung treffen die Röntgenstrahlen nicht nur den Darmtrakt, sondern auch das blutbildende System, die Milz und die Thymusdrüse und somit auch das immunologisch aktive System. In zahlreichen Versuchen konnte der Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Antikörperbildung nachgewiesen werden (1,36, 45, 48, 70). Wie Allert (1) und Stender (70) zeigten, reichte eine Strahlendosis von 200 R zu einer kurzfristigen Hemmung der Antikörperbildung.

Da nach einmaliger Röntgenbestrahlung weißer Ratten vereinzelt auch Darmtumoren auftreten (58) und der Rattendarm nach Lokal- und Ganzkörperbestrahlung nicht nur herdförmige Schleimhautatrophien sondern auch Hyperregenerate vor allem in der Dickdarmschleimhaut aufweist (2) mit Verringerung der Becherzellen, darf eine Syncarcinogenese von 1,2 Dimethylhydrazin und Röntgenstrahlen nicht außer acht gelassen werden.

Die Dünndarm- und Dickdarmschleimhaut gehören entsprechend ihrer relativ großen Zellneubildungsrate (2, 16) zu den besonders strahlenempfindlichen Geweben des Warmblüterorganismus. Sowohl über den Schädigungsmechanismus ionisierender Strahlen (50) am Dünndarm als auch über die nachfolgende Regeneration und ihren zeitlichen Ablauf liegen Untersuchungen vor (27). Angaben über Strahlenschädigungen und Regeneration der Dickdarmschleimhaut sind in einem Artikel von Arenz und Oehlert (2) niedergelegt. Befunde an der Dickdarmschleimhaut interessieren vor allem deshalb, weil hier ein Großteil der bösartigen Tumoren des Magendarmtraktes beim Menschen lokalisiert ist, während die Dünndarmschleimhaut nur außerordentlich selten Ausgangspunkt von Tumorwachstum ist. Dieses Verteilungs-

muster entspricht etwa der bei niedriger Dosierung im Experiment erhaltenen Tumorlokalisation.

In mehreren Versuchsanordnungen haben Schmähl et al (64) und Schoenthal (67) an anderen Organen experimentelle Untersuchungen zur Syncarcinogenese durchgeführt. Aus diesen Ergebnissen ist zu erkennen, daß nur Carcinogene mit gleicher Cyto- und Organotropie zu einer Syncarcinogenese führen.

Der Anstieg der Tumoranzahl im Duodenum und Dünndarm bei einmaliger Vorbestrahlung und auch bei der Gruppe mit zwei weiteren Ganzkörperbestrahlungen kann wegen der kurzzeitigen Hemmung der Antikörperbildung (ca 6 Tage) nur als syncarcinogener Effekt nach röntgenspezifischer Schädigung der Darmwachstumzone in den Krypten angesehen werden.

Da nicht nur in der Gruppe der vorbestrahlten Ratten sondern in der Gruppe mit zwei weiteren Bestrahlungen während der Induktionszeit das Tumorstadium bei gleicher Induktionszeit schneller ist als bei den Vergleichstieren ohne Bestrahlung muß bei dieser Versuchsanordnung mit einer Syncarcinogenese gerechnet werden.

Auch Stoffwechselprodukte mikrobiologischer Herkunft wurden zur Krebstherapie herangezogen (15, 28, 34). So versuchte schon 1868 Busch maligne Tumoren durch absichtliche Infektion mit Erysipel zu beeinflussen. Aus der Gruppe von antibiotischen Naturstoffen wurde Actinomycin "C" ausgewählt. Actinomycin ist keine einheitliche Substanz sondern besteht vielmehr aus mindestens 3 Stoffen. Als wasserlösliche kristalline Form ist es in dem Präparat Sanamycin (Bayer) enthalten. Gram-positive Bakterien werden erst bei höheren Konzentrationen beeinflusst. Eine bakteriostatische Wirkung liegt nur bei einer lokalen hohen Konzentration vor, nicht aber über den Blutweg (77). Durch die cytostatische Wirkung kommt es vor allem zu einer Hemmwirkung auf Thymus, Milz und Lymphknoten (Organe des Lymphatischen Systems) und der Darmschleimhaut. Sanamycin erinnert in seinem bio-

logischen Effekt stark an die Wirkung von Röntgenstrahlen (14). Boric et al (8, 9) wandte Actinomycin "C" bei transplazentablen Tumoren an Mäusen und Ratten an. Bei Versuchen in vitro an menschlichem Gewebe konnte Bierling (6) ebenfalls eine cytotoxische und cytostatische Wirkung von Actinomycin "C" nachweisen.

Das schnellere Wachstum der durch DMH induzierten Darmtumoren und der signifikante Anstieg von Dünndarmtumoren bei intraperitonealer Gabe von Sanamycin während der Induktionszeit kann durch die immunsuppressive Wirkung oder durch die mögliche Darmschleimhautschädigung im Sinne einer Syncarcinogenese bedingt sein. Ein cytostatischer Effekt konnte mit Actinomycin nicht erreicht werden.

Ein wesentlicher Bestandteil der heutigen Tumorthherapie ist die Behandlung mit Cytostatika. Seit ca 15 Jahren spielen in der Chemotherapie der Geschwülste die alkylierenden Cytostatika eine wesentliche Rolle. Aus der N- Lost Reihe hat besonders das Endoxan Asta Bedeutung erlangt. Der Entwicklung des Cyclophosphamids (Endoxan) lag die Idee zugrunde, Stickstofflost mit seiner starken und allgemeinen zytotoxischen Wirkung durch geeignete chemische Veränderungen in eine inaktive " Transportform " zu überführen, aus der erst in der Leber die Vorstufe der eigentlichen Wirkform freigesetzt wird. Hierdurch erwartet man sich die Verringerung der Allgemeintoxizität und eine Erhöhung der Wirkung am Tumor (10, 11,12,13,30). Alkylierende Substanzen reagieren mit bestimmten Wirkgruppen der für die Zellvermehrung entscheidenden Eiweißkörper und führen damit zu einer Hemmung der Nucleinsäure, der Desoxyribonucleinsäure (43, 52,53) und der Glykolyse (55).

Da Endoxan nicht nur die Tumorzellvermehrung (9,42) sondern auch die normale Gewe^bsreaktion hemmt, wird die Antikörperproduktion stark eingeschränkt

(29, 32,36,55,56,70,71). Stender und Mitarbeiter (70, 71) zeigten, daß nicht nur die Induktion von Antikörper-bildenden Zellen gehemmt, sondern auch die bereits Stoffwechsel-aktiven, jungen und reifen Plasmazellen beeinflußt werden. Die rasche Erholungsfähigkeit der immunologischen Stammzellen (71) führte zu dem Schluß, die Behandlung konsequent mit geringen Dosen ohne längere Pausen durchzuführen.

Wie das Ergebnis zeigt, war durch die Behandlung der Ratten mit Endoxan das Tumorstadium stark eingeschränkt. Die cytostatische Wirkung des Präparates auf den Tumor war also stärker als die mögliche Tumorstadiumsbeschleunigung durch die gleichzeitige immunsuppressive Wirkung von Endoxan. Eine Entartung der Tumoren konnte nicht verhindert werden. Auch durch Endoxan traten vermehrt Tumoren im Duodenum auf.

Wie Schmähl (64) und Schmidt (66) zeigten konnten bei langanhaltender Endoxantherapie vermehrt Spontanumoren außerhalb des Darmtraktes (Phäochromocytome, Mammafibrome, Nieren- und Bronchusadenome, maligne Lymphadenome und myeloische Leukämien nachgewiesen werden. Miller (46) wertete das frühere Tumoraufreten und die häufigere Entartung bei experimentellen Untersuchungen an Papillomen nach Thymektomie als Wirkung der Immunsuppression. Während beim Menschen im Gegensatz zur immunsuppressiven Therapie nach Organtransplantationen bei Autoimmunkrankheiten mit der gleichen Behandlung die Entstehung von malignen Tumoren nach Scheiffarth (62) und Woods (69) noch nicht sicher nachgewiesen werden konnte, berichtete Reis (59) von einer großen Häufigkeit von Carcinomen im Magen-Darmtrakt beim Antikörpermangelsyndrom und bei der Dysgammaglobulinämie.

Während die indirekt stimulierende Wirkung der Immunsuppression z.B. durch Thymektomie oder Antilymphocytenserum auf das Wachstum der onkogenen Viren induzierter Tumoren übereinstimmend als sicher gilt (46), sind die Ergebnisse der chemischen Karzinogenese und ihrer Beeinflussbarkeit durch Immunsuppression noch widerspruchsvoll. Dabei dürfte die schwächere Antigenität

der chemisch induzierten Tumorzellen eine große Rolle spielen (46). Im Gegensatz dazu sind die virusinduzierten Tumoren und Leukämien dadurch gekennzeichnet, daß sie tumorspezifische Antigene tragen. (Gallmeier 31).

Die bei der gleichzeitigen Behandlung mit Endoxan vermehrt im Duodenum aufgetretenen Tumoren können sowohl durch den spezifisch hemmenden Einfluß auf die von DMH vorgeschädigte Schleimhaut als auch durch die immunsuppressorische Wirkung des Präparates hervorgerufen worden sein.

Zusammenfassung

Nach subcutaner Applikation von 1,2 Dimethylhydrazin DMH treten bei Sprague-Dawley - und Wistar-Ratten in allen Darmabschnitten, der größte Teil aber im Colon, morphologisch benigne und maligne Schleimhauttumoren auf. Metastasen traten nur bei schleimbildenden Carcinomen in der Lunge und als Peritonealcarcinose mit Infiltration in die Ovarien- ähnlich Kruckenbergmetastasen beim Menschen- auf. Lebermetastasen wurden nicht beobachtet.

Histologisch handelt es sich um adenomatöse und villöse Polypen, ferner um exophytisch bzw. endophatisch wachsende zum Teil verschleimende Adenocarcinome. Gelegentlich wurden auch von wenigen Drüsen ausgehende monocellulär verschleimende Siegelringzell-Carcinome nachgewiesen. Nach langer Induktionszeit (über 300 Tage) traten undifferenzierte Nierentumoren ähnlich den Verhältnissen nach Cycasin-Gabe, aber mit einem anderem histologischen Bild auf.

Die niedrigste Dosis zur Erzeugung von Darmtumoren war eine einmalige Injektion von 2 mg DMH bei einem Körpergewicht von 130 g. Eine 100% ige Angehrate bei gleicher Induktionszeit wurde bei 16 maliger Injektion von 10 mg DMH/kg KG/ Woche festgestellt.

Die Induktionszeit war entsprechend dem Dosis - Zeit - Prinzip des Cancerogens verkürzt.

Eine diaplazentare Wirkung von 1,2 DMH konnte nicht nachgewiesen werden.

Eine Ganzkörperbestrahlung bzw. die gleichzeitige intraperitoneale Gabe von Sanamycin führte zu einer signifikanten Vermehrung von Tumoren im Duodenum, Jejunum und Ileum und zu schnellerem Wachstum der Darmtumoren.

Mit dem Cancerogen zusätzlich appliziertes Endoxan hatte gemessen an der Größe und der Anzahl der Tumoren einen cytastatischen Effekt.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALLERT, U.:
Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz.
Strahlentherapie 135 S. 227 - 233 (1968)

- 2 ARENZ, F. und OEHLERT, W.:
Die Regeneration der Dickdarmschleimhaut der Ratte
nach Lokal - und Ganzkörperbestrahlung.
Strahlentherapie 138 S. 365 - 374

- 3 ANONYM:
Virusgenese der akuten Lymphoblastenleukaemie.
Dtsch med Wochenschr. 96 S. 315 / (1971)

- 4 BAUER, H.:
Ergebnisse zur Virusbedingten Tumorgenese
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 75 S. 558 (1969)

- 5 BIENENGRÄBER, A., PUTZKE, H. und TESSMAN, D.:
Zur Chemotherapie widerstandsfähiger Transplantations-
tumoren
Z.f. Krebsforsch. 66 S. 438 - 448 (1965)

- 6 BIERLING, R.:
Die Wirkung von Actinomycinen auf menschliche Gewebe
in vitro.
Z. f. Krebsforsch. 63 S. 519 - 522 (1960)

- 7 BLIXENKRONE + MOLLER, N:
Prophylaktische Chemotherapie bei makroskopisch radikal
operierten Karzinomen des Gastrointestinaltraktes.
Bull. Soc. int. Chir. 23 S. 557 - 562 (1964)

- 8 BORIC, F., IVANKOVIC, S. und SEEMAYER, N.:
Über die Wirkung des Actinomycin C auf ein transplantables
Lymphsarkom der Maus.
Z. f. Krebsforsch. 62 S. 239 -- 241 (1957)

- 9 BORIC, F., SEEMAYER, N. und IVANKOVIC, S.:
Untersuchungen über die Wirkung des Actinomycin C
auf das Yoshida - Sarkom der Ratte.
Z. f. Krebsforsch. 62 S. 241 - 243 (1957)

- 10 BROCK, N.:
Zur Frage der selektiven Tumoreinwirkung von Endoxan.
Med. et Hyg. XVII S. 480 (1959)

- 11 BROCK, N.:
Pharmakologische Grundlagen der Chemotherapie maligner
Tumoren.
Oncologia 14 S. 224 - 231 (1961)

- 12 BROCK, N.:
Zur pharmakologischen Charakterisierung zyklischer
N-Lost-Phosphamidester als Krebs-Chemotherapeutika.
Arzneimittelforsch. 8 S. 1 (1961)

- 13 BROCK, N. und HOHORST, H.J.:
Über die Aktivierung von Cyclophosphamid im Warmblütler-
organismus.
Naturwissensch. 49 S. 610 - 611 (1962)

- 14 BROCKMANN., H. und GRUBHOLERN:
Actinomycin C.
Naturwissensch. Heft 12, S. 376 - 377 (1949)

- 15 BUSCH, W.:
Berl. Klin. Wschr. 5 S. 137 - 138 (1968)

- 16 COLE, W.J. und MC KALEN, A.:
Observations of cell renewal in human rectal mucosa in
vivo with ³H - thymidine.
Gastroenterology 41 S. 2 (1962)

- 17 DONTENWILL, W. und EDER, M.:
Neue Befunde über Geschwulstbildungen nach Follielhormon-
behandlung beim Goldhamster.
Naturwissensch. 44 Heft 22 S. 591 (1957)
- 18 DRUCKREY, H.:
Vortrag am deutschen Krebskongreß in Berlin 1968
- 19 DRUCKREY, H. et al:
Transplacentare induction of neurogenic malignoms by
1,2 dimethylhydrazine, azo- and azoxyethane in rats.
Experientia (Basel) 24 S. 561 - 562 (1968)
- 20 DRUCKREY, H., LANDSCHÜTZ, Ch. und IVANKOVIC, S.:
Transplazentare Erzeugung maligner Tumoren des Nerven-
systems.
Z. f. Krebsforsch. 73 S. 371 - 386 (1970)
- 21 DRUCKREY, H., PREUSSMANN, F., MATZKIES, F. und
IVANKOVIC, S.:
Selektive Erzeugung von Darmkrebs bei Ratten durch
1,2 - Dimethylhydrazin.
Naturwissensch. 54 S. 285 - 286 (1967)
- 22 DRUCKREY, H. und RAABE, S.:
Organspez. Chemotherapie des Krebses.
Klin. Wschr. 30 S. 882 - 884 (1952)
- 23 DRUCKREY, H., SCHMÄHL, D. und DISCHLER, W.:
Dosis-Wirkungs-Beziehungen bei der Krebserzeugung
durch 4- Dimethylaminostilben bei Ratten.
Z. f. Krebsforsch. 65 S. 272 - 288 (1963)
- 24 DRUCKREY, H., SCHMÄHL, D., DISCHLER, W. und SCHILDBACH, A.:
Quantitative Analyse der experimentellen Krebserzeugung.
Naturwissensch. 49 S. 217 - 228 (1962)

- 25 DRUCKREY, H., SCHMÄHL, D. und SCHILDBACH, A.:
Dosis-Wirkungs-Beziehung bei cancerogenen Substanzen.
Naturwissensch. 48 S. 56 - 57 (1961)
- 26 EDER, M.:
Neuere morphologische Aspekte der Magen-Darm-Tumoren.
Deutscher Krebskongreß Berlin 1968.
- 27 EDER, M.:
Zellerneuerung im Magen-Darm-Trakt.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50. Tg. 75 (1966)
- 28 FEHLEISEN:
Dt. med. Wschr. 8 S. 553 - 554 (1882)
- 29 FINGER, H.:
Die unterschiedliche Beeinflussung der Amtikörperbildung
von Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen durch
6 - Merkaptopurin und Cyclophosphamid.
Z. exp. ges. Med. 143 S. 105 - 120 (1967)
- 30 FRIEDMANN, O.M.:
Neue biologische und chemische Studien über Cyclophosphamid.
Canc. chemoth. Rep. 51 S. 327 - 333 (1967)
- 31 GALLMEIER WM., OETTGEN H.F.:
Deutsch Med. Wschr. 93 S. 1114 -1118 (1968)
- 32 GILLISSEN, G.:
Der immunsuppressorische Effekt von Histon am Modell der
Haut-Homotransplantation.
Vergleichende Untersuchungen mit Cyclophosphamid.
Z. ges. exp. Med. 152 S. 335- 351 (1970)

- 33 HACKMANN, CH.:
Stoffwechselprodukte aus Mikroorganismen (Antibiotika)
als antineoplastische Wirkstoffe.
Dtsch.med.Wschr. 88 S. 812 - 818 (1955)
- 34 HACKMANN, CH., SCHMIDT-KASTNER, G.:
Über die cytostatische Wirkung verschiedener neuer
biosynthetischer Actinomycine bei experimentellen Tumoren.
Z. f. Krebsforsch. 61 S. 607 - 615 (1957)
- 35 HAUSEN, H.:
Virusinduzierte Onkogenese.
Med. Welt 47 S. 2020 - 2023 (1970)
- 36 HERMANN, G., DOSTAL, G. und SESTERHENN, K.:
Die Immunocytoadharrenz als qualitative Methode zur Austestung
der Kinetik immunsuppressiver Substanzen.
Münch. med. Wochenschr. 23 S. 905 - 906 (1971)
- 37 JUHASH, J., BALO, J. und SZENDE:
Über die geschwulsterzeugende Wirkung des Hydrazinhydrat
Z. f. Krebsforsch. 70, S. 150 - 156 (1967)
- 38 LANG, N.:
Immunologie des Karzinoms als Grundlage therapeutischer
Überlegungen.
Med. Welt 50 S. 2538 (1963)
- 39 LAQUER, G.:
Krebserzeugung durch chemische Substanzen in Naturstoffen.
Dtsch. Krebskongreß Berlin 1968.
- 40 LAQUER, G.:
The induction of intestinal neoplasma in rats with the
glycoside Cycasin and its Aglycone.
Virchows Arch. path. Anat. 340 S. 151 - 163 (1965)

- 41 LEMTIS, H.:
Über die sog. Plazentametastasen maligner Blastome der Mutter.
Dtsch. Krebskongreß Berlin 1968.
- 42 LENNARTZ, K.J., SIEMONEIT, K.D., BAHNTJE, K.U. und EDER, M.:
Autoradiographische Untersuchungen über die Änderung des Zellcyclus und der ^3H -Thymidin-Einbaurrate durch Cyclophosphamid bei zwei verschiedenen Ehrlichs-Ascitestumoren.
Z. f. Krebsforsch. 73 S. 110 - 121 (1969)
- 43 LISS, E. und PALME, G.:
Die Hemmung des Einbaues von ^{32}P in die DNS durch Endoxan.
Naturwissenschaften 50 S. 336 - (1963)
- 44 LÖHR, U., WIEBECKE, B. und EDER, M.:
Morphologische und autoradiographische Untersuchung der Darmschleimhautveränderungen nach einmaliger Injektion von 1,2 - Dimethylhydrazin.
Z. ges. exp. Med. 151 S. 297 - 307 (1967)
- 45 MESSERSCHMIDT, O., LAMGEMDORF, H. und BÖMER, H.:
Untersuchungen über Kombinationsstörungen.
Strahlentherapie 139 S. 354 - 361 (1970)
- 46 MILLER, J.F.:
Influence of Thymectomy on the induction by Polyoma-Virus in C 57 Bl - Mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (CNY) 116 S. 323 (1964)
- 47 MOHR, U. und ALTHOFF, J.:
Zum Nachweis der diaplazentären Wirkung von Diäthyl-nitrosamin beim Goldhamster.
Z. f. Naturforsch. 20 S. 501 (1965)

- 48 NEIDHARDT, M.:
Über den Einfluß cytostatischer und radiologischer Behandlung auf die Bildung hämagglutinationshemmender Antikörper gegen Influenza-Virus A PR 8.
Z. ges. exp. Med. 150 S. 161 - 169 (1969)
- 49 NCWELL, P.C., COLE, L.J. und ELLIS, M.E.:
Induktion of intestinal carcinoma in the mouse by whole-body fast-neutron irradiation.
Cancer Res. 16 S. 873 - 876 (1956)
- 50 OEHLERT, W. und BÜCHNER, TH.:
Mechanismus und zeitlicher Ablauf der physiologischen Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel und in der Schleimhaut des Magen-Darm-Traktes der weißen Maus.
Beitr. path. Anat. 125 S. 347 (1961)
- 51 OSSWALD, H. und KRÜGER, F.:
Die cancerogene Wirkung von 1,2 Dimethylhydrazin beim Goldhamster.
Arzneimittel-Forschung 19 S. 1891
- 52 PALME G. und LISS E.:
Autoradiographische Untersuchungen über den Einfluß von Cyklophosphamid (Endoxan) auf die DNS - Synthese proliferierender Zellsysteme der Maus.
Klin. Wsch. 41 S. 291 - 292 m(1963)
- 53 PALME, G. LISS, E. OEFF, K. und PLATIS A.:
Der Einfluß von Cyclophosphamid auf die Desoxyribonuclein - Säure - Synthese von normalen proliferierenden Zellen sowie Aszites - Tumorzellen.
Arzneim. - Forschung 13 S. 1034 - 1039 (1963)
- 54 PIELSTICKER, K., WIESER, O., MOHR, U. und WRBA, H.:
Diaplazentar induzierte Nierentumoren bei der Ratte,
Z. f. Krebsforsch. 69 S. 345 - 350 (1967)

- 55 POTEL, J.:
Die Beeinflussung immunologischer Reaktionen durch
cancerotoxische Substanzen.
Arzneimittelforschung 15 S. 527 - 531 (1965)
- 56 POTEL, J. und BROCK, N.:
Die Beeinflussung immunologischer Reaktionen durch
cancerotoxische Substanzen.
Arzneimittelforschung 15 S. 659 - 666 (1965)
- 57 REINCKE, U., STUTZ, E. und HUNSTEIN, W.:
Tumorfrequenz und Lebensverkürzung nach fraktionierter
Röntgenganzbestrahlung weißer Ratten.
Strahlentherapie 128 S. 425 - 440 (1965)
- 58 REINCKE, U., STUTZ, E. und WEGNER :
Tumoren nach einmaliger Röntgenbestrahlung weißer Ratten
in verschiedenen Lebensalter.
Z. f. Krebsforsch. 66 S. 165 - 186 (1964)
- 59 REIS, H.E.:
Die Bedeutung der Immunsuppression für die Entstehung
und das Wachstum maligner Geschwülste.
Dtsch. Med. Wochenschr. 96 S. 170 - 174 (1971)
- 60 RIEDE, K.:
Zur Frage der Kanzerogenität von Cytostatika.
Arch. Geschwulstforschung 34 S. 240 (1969)
- 61 ROSA, C.G. and TSOU, K.C.:
Use of tetrazolium compounds in oxidative enzyme
histo- and cytochemistry.
Nature (London) 192 S. 990 (1961)
- 62 SCHEIFFARTH, F.:
Zur Langzeitbehandlung mit Immunsuppressiva.
Dt. Med. Wochenschrift 95 S. 650 (1970)

- 63 SCHEIFFARTH, F. und WARNAZ, H.:
Langzeitbehandlung von Immunopathien unter besonderer
Berücksichtigung immunsuppressiver Medikamente.
Deutsche med. Wochenschr. 94 S. 2444 - 2446 (1969)
- 64 SCHMÄHL, D.:
Kancerogene Wirkung von Cyclophosphamid und Triazololon
bei Ratten.
Dt. med. Wochenschrift 92 S. 1150 (1967)
- 65 SCHMÄHL, D., OSSWALD, H. und BRUNE, H.:
Chemotherapie-Versuche mit Endoxan an autochthonen
Benzpyren-Sarkomen bei Ratten und Mäusen.
Z. f. Krebsforsch. 68 S. 293 - 302 (1966)
- 66 SCHMIDT, CG.:
Kancerogene Effekte von Immunsuppressiva?
Deutsch med. Wochenschrift 94 S. 508 (1969)
- 67 SCHOEHNTHAL, R. and BENSTED, J.P.:
Effects of whole body irradiation and of partial
hepatektomye on the liver lesions induced in rats by
a single dose of retorsine, a pyrrolizine (senecio)
alkaloid.
Brit.J. Cancer 17 S. 242 (1963)
- 68 SCHREIBER, D., JÄNISCH, W., WARZOK, R. und TAUSCH, H.:
Die Induktion von Hirn- und Rückenmarkstumoren bei
Kaninchen mit N-Methyl-N- Nitroharnstoff.
Z. ges. exp. Med. 150 S. 76 - 86 (1969)
- 69 SPRINGER, P. SPRINGER, J. und OEHLERT, W.:
Die Vorstufen des 1,2 Dimethylhydrazin-induzierten
Dick- und Dünndarmcarcinoms der Ratte.
Z. f. Krebsforsch. 74 S. 236 - 240 (1970)

- 70 STENDER, H., STRAUCH D. und WINTER H.:
Vergleichende Untersuchungen über die Behinderung der
Antikörperbildung durch Röntgenstrahlen und einen N-Last-
Phosphamidester.
Strahlentherapie 115 S. 175 - 186 (1961)
- 71 STENDER, H.St., STRAUCH, D., WINTER, H. und TEXTOR W.:
Die Wirkung des Cyclophosphamids bei fraktionierter oder
massierter Dosierung auf die Antikörperbildung.
Arzneimittelforschung 13 S. 1031 - 1033 (1963)
- 72 STUTTE, H.J.:
Hexazotiertes Triamino-Tritolyl-Methan α chlorid
(Neufuchsin) als Kupplungssalz in der Fermenthis-
tochemie.
Histochemie 8 S. 327 - 331 (1967)
- 73 SUGIURA, A., SCHMID, F. und SCHMID, M.:
Antitumor activity of Endoxan.
Cancer Res. 21 S. 1412 - 1420 (1961)
- 74 THOMAS, C. und BOLMANN, R.:
Untersuchungen zur diaplazentaren krebserzeugenden
Wirkung des Diäthylnitrosamins an Ratten.
Z. f. Krebsforsch. 71 S. 129 - 134 (1968)
- 75 THYBUSCH, D., BROSOVSKI, K.H. und WOOHSMANN, FL.:
Hexazotiertes Pararosanilin und Diamantfuchsin als
Kuppler bei Naphthol - AS - Acetaten zum Nachweis der
unspezifischen Esterase.
Acta histochem. (Jena) 23 S. 127 - 130
- 76 VANDEPUTTE, M. DENIS, P., LEYTEN, R., DE SOMER, P.:
The onogenic activity of the Polyoma-Virus.
Life sci. 2 S. 475 (1963)

- 77 WALSMANN, S.A. und WOODRILL, H.B.:
J. Bacteriol. 40 S. 583 (1940)
- 78 WHEELER, A.G., DANSBY, D. und HAWKINS, H.C.:
Toxicologic Prosperities of Cyclophosphamide (Cytosan)
Fed. Prod. 20 S. 434 (1961)
- 79 WIEBECKE, B., LÖHRS, U., GIMMY, J. und EDER, M.:
Erzeugung von Darmtumoren bei Mäusen durch 1,2 Dimethyl-
hydrazin.
Z. ges. exp. Med. 149 S. 277 (1969)
- 80 WIONTZEK, H.:
Zur Langzeitbehandlung mit Immunsuppressiva.
Deutsch. Med. Wschr. 95 S. 915 (1970)
- 81 WOODS, D.H.:
Influence of antilymphocytserum on DMBA-Induction of
oral carcinomas.
Nature (London) 224 S. 276 (1969)

LEBENS LAUF

Geboren am 13. 10. 1942 in Regensburg

Vater: Fritz Wildanger, Bauingenieur

Mutter: Elisabeth Wildanger, geb. Bastians

Ab September 1948 Volksschule in Regensburg

Ab September 1953 Internatschüler am Humanistischen
Gymnasium des Benediktinerklosters Metten/Ndb.

18. Juli 1962 Reifeprüfung

Ab WS 1962/63 Hochschulstudium an der Technischen
Hochschule München, Fakultät für Bauwesen.

Ab WS 1964/65 Studium an der Universität München,
Fakultät für Humanmedizin.

Vorphysikum nach dem SS 1965

Physikum nach dem WS 1966/1967

Staatsexamen bestanden am 19. Juni 1970

Medizinalassistent:

3 1/2 Monate am Pathologischen Institut der Universität
München.

4 Monate auf der Abteilung für Innere Medizin am Kranken-
haus der Barmherzigen Brüder in Regensburg.

5 Monate auf der Abteilung für Chirurgie des Frauen-
krankenhauses in Regensburg

Assistent:

13 Monate auf der Abteilung für Chirurgie des Frauen-
krankenhauses in Regensburg

Seit Oktober 1972 Truppenarzt als Wehrpflichtiger.

